

論文の要旨

アドレノメデュリンの血管系に対する影響の検討

指導教官 波利井 清紀

外科学専攻・平成10年入学

学生証番号 87494 河合 順介

【背景】アドレノメデュリン（AM）は長時間持続する強い血管拡張作用を持つペプチドで、副腎のみならず全身の血管で多量に発現・分泌されており、現時点では、循環調節ホルモンだと考えられている。AMは動脈硬化巣において強く発現していることからその進展に重要な役割を果たしていることが推測される。しかし、AMの動脈硬化に対する作用に関しては矛盾した報告があり、不明の点も少なくない。

また、最近、動脈硬化進展における活性酸素種(ROS)の役割が注目されている。すなわちROSは動脈硬化血管における炎症の惹起因子で、動脈硬化進展に重要な役割を果たしていると考えられている。炎症反応における酵素の1つであるNADH/NADPH oxidaseが動脈硬化血管におけるROSの産生に重要な役割を

果たすことが知られている。ここでAMはROSを抑制することが知られており、このため動脈硬化進展に対しても防御的に働く可能性がある。

これらの背景より、AM^{+/-}マウスに対して局所的な動脈硬化モデルである大腿動脈カフ被包モデルを作成し、AMの抗動脈硬化作用を調べるとともに、酸化ストレスならびにその発生源としてのNADH/NADPH oxidaseの関与について検討した。

【方法】 AM^{+/+}マウスとAM^{+/-}マウスに対し、大腿動脈カフ被包モデル2週間後における内膜増殖の程度を内膜/中膜(I/M)比の測定を行い比較検討した。さらにAM^{+/-}マウスにおける変化がAM低下にもとづくものか否かを確認する目的で、カフ被包部のAM発現を免疫染色を行って比較するとともに、アデノウィルスを用い、AMを局所的な過剰発現による内膜肥厚への影響を調べた。また、coelenterazineの化学発光を用いて酸化ストレスの程度を比較した。酸化ストレスの関与を調べる目的でスーパーオキシドデスムターゼ(SOD)類似物質TMPOLのカフモデルによる内膜増殖への影響を調べた。さらにNADH/NADPH oxidaseの関与を調べる目的でそのsubcomponentであるp67phoxの免疫染色を行った。

【結果】

1. 大腿動脈カフ被包処置により内膜増殖を来したがその程度はAM^{+/+}マウスに比べてAM^{+/-}マウスで著明であった。
2. 大腿動脈カフ被包部位のAM発現を調べたところAM^{+/+}マウスに比べてAM^{+/-}マウスで低下していた。
3. 大腿動脈カフ被包部位にAMを過剰発現させると、内膜増殖は抑制されたが

その抑制の程度は AM^{+/+}マウスに比べて AM^{+/-}マウスで著明であり、AM 過剰発現後の大腿動脈カフ被包処置による内膜増殖は両方のマウスで同程度であった。

4. 大腿動脈カフ被包血管における活性酸素の産生を測定すると AM^{+/+}マウスに比べて AM^{+/-}マウスの方が著明であった。
5. AM^{+/+}マウスマウスにおける大腿動脈カフ被包血管における活性酸素産生の亢進は ex vivo の系で AM 添加により濃度依存性の抑制を受けた。
6. SOD 類似 TEMPOL 投与により大腿動脈カフ被包血管における活性酸素産生は抑制されたが、その程度は AM^{+/+}マウスに比べて AM^{+/-}マウスで著明であった。
7. SOD 類似 TEMPOL 投与により大腿動脈カフ被包処置による内膜増殖は抑制されたが、その抑制の程度は AM^{+/+}マウスに比べて AM^{+/-}マウスで著明であり、TEMPOL 投与後の大腿動脈カフ被包処置による内膜増殖は同程度となった。
8. 大腿動脈カフ被包血管においては特に内皮と外膜で p67 Phox の発現亢進を認めたが、その程度は AM^{+/+}マウスに比べて AM^{+/-}マウスで著明であった。

【考察】本研究においては、大腿動脈カフ刺激により AM^{+/-}マウスでは AM^{+/+}マウスよりも著明な内膜肥厚を認め、しかもカフ刺激部における AM の発現は AM^{+/+}マウスで低下しており、局所的に AM を過剰発現させることにより、内膜肥厚は著明に抑制された。したがって、内因性の AM は動脈硬化形成刺激に対して保護的に作用することが示唆された。さらにカフ被包部における活性酸素の発生は AM^{+/-}マウスで有意に高く、AM^{+/-}マウスで認められる動脈硬化形成促進は酸化ストレス亢進を伴うことが明らかになった。さらに ex vivo の系に

において AM の投与で酸化ストレスは濃度依存性に減少を示し、AM が直接的に酸化ストレスを抑制することが示唆された。加えて、SOD 類似物質である TEMPOL を投与すると AM^{+/-}マウスでは内膜肥厚の抑制に伴い、活性酸素の減少を認め、酸化ストレス亢進が AM 不足による動脈硬化形成促進に重要な働きをしている可能性が考えられた。さらに活性酸素種の発生源の1つとして知られる NADH/NADPH oxidase の subcomponent の1つである p67 phox の発現が AM^{+/-}マウスにおいて亢進しており、この酸化ストレス亢進には NADH/NADPH oxidase が関与していることが推測された。

【結論】

AMは酸化ストレスの抑制を介して血管内膜増殖を抑制し、動脈硬化に対して防御的に作用する可能性が示唆された。